

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	原 洋祐
論文審査担当者	主 査 塩沢 丹里 副 査 宇佐美 真一 ・ 竹下 敏一
論文題目	Analysis of mutation in the <i>IL2RG</i> in two Asian infants with X-linked severe combined immunodeficiency (X連鎖重症複合免疫不全症のアジア人2症例における <i>IL2RG</i> 遺伝子の変異の解析)
(論文の内容の要旨)	<p>[背景と目的]</p> <p>重症複合免疫不全症(SCID)は最も予後不良な原発性免疫不全症である。救命するためには造血幹細胞移植(SCT)が必要で、近年は遺伝子治療が試みられている。しかし、重症感染症合併後では SCT の治療成績が著明に低下するため、重症感染をきたす前に早期診断することが生命予後の改善に重要である。SCID は遺伝学的に heterogeneous で、変異を認める遺伝子により異なる免疫学的特徴を示す。従って、SCID の確定診断は免疫学的特徴より推測される責任遺伝子の変異を確認することによりなされる。SCID の約半数を占める X連鎖 SCID(X-SCID)は、サイトカイン受容体の共通 γ 鎖をコードしている <i>IL2RG</i> 遺伝子の変異が原因である。この共通 γ 鎖は CD132 と呼ばれ、IL-2、IL-4、IL-7 など多種類のサイトカイン受容体のサブユニットで、一般的に T 細胞および NK 細胞が欠損する。</p> <p><i>IL2RG</i> に変異を認めた SCID 2例(1例は未知の変異で、他の1例は詳細な免疫学的特徴は報告されていない)について、臨床症状、特に免疫学的特徴と mRNA および共通 γ 鎖蛋白質の発現の異常について検討した。</p> <p>[結果]</p> <p>〈症例1〉6か月の男児。生後まもなくから感染症を繰り返した。6か月時の血液検査では白血球数は正常範囲内であったが、リンパ球数は著減しており、血清 γ グロブリンも低値であった。CD3⁺T 細胞と CD16⁺CD56⁺NK 細胞は減少していたが、CD19⁺CD20⁺B 細胞数は正常範囲内であった。〈症例2〉2か月の男児。3人の叔父が乳児期に原因不明で死亡していた。生後2か月時に高熱を来した。白血球数の減少、好中球とリンパ球の著明な減少を認めた。低 γ グロブリン血症、肝機能異常を認め、サイトメガロウィルス(CMV)抗原が陽性であった。CD3⁺T 細胞は著明に減少しており、CD16⁺CD56⁺NK 細胞数も減少していたが、B 細胞数は正常範囲内であった。抗ウイルス薬の投与で肝機能異常は改善し、好中球数、CD16⁺CD56⁺NK 細胞数の改善を認めたが、CMV 血症は持続していた。</p> <p><i>IL2RG</i> の全エクソンについて DNA シークエンスを行なった。症例1では、exon 2 の3'末端にナンセンス変異 (c. 269 G>A, p. Trp90X) を認めた。症例2では新規変異である exon 3 の1塩基欠失(c. 359delA, p. Lys120ArgfsX26) を認めた。</p> <p>症例1のexon 1から8までのPCR産物は正常サイズのmRNAのバンドに加えてサイズの小さなバンドから構成されていた。また、exon 2から3にかけてのmRNAのバンドは認められなかった。正常サイズのmRNAは母由来のT細胞によるものと考えられた。mRNAの配列を解析したところ、exon 2がスキップしていることが判明し、このことが<i>IL2RG</i> mRNA発現を低下させたと考えられた。</p> <p>CD19⁺CD20⁺B 細胞、CD4⁺T 細胞、CD8⁺T 細胞について、症例2ではさらに CD2⁺CD56⁺NK 細胞について細胞表面の CD132 の発現を検討した。その結果、末梢血の CD19⁺CD20⁺B 細胞の CD132 発現は2例とも著明な低下を認めた。CD4⁺と CD8⁺T 細胞における発現は症例1では上昇していたが、症例2では健常者と大きな差異を認めなかった。症例2の CD56⁺NK 細胞の CD132 発現は低下していた。</p>

経胎盤的に混入した母体由来のリンパ球の有無について検討するため、患者末梢血単核球より CD3⁺細胞と CD56⁺NK 細胞を分画し、XY-FISH 法により検討した。症例 1 と 2 の CD3⁺T 細胞では XX シグナルがそれぞれ 64.4%と 93.4%であり、CD3⁺T 細胞は主に母体由来であった。一方、症例 2 の CD56⁺NK 細胞の 97.0%は XY シグナルを呈し、大部分が患児由来であった。

両例に対して臍帯血移植(CBT)を施行した。症例1に対しては免疫学的再構築とともに、臨床的回復が得られた。一方、CMV 感染をきたしていた症例2では臍帯血移植後に免疫学的再構築は得られたものの、移植後経過中にCMV脳炎を発症し下肢の運動障害を残した。

[考察]

一般的にX-SCIDでは、T細胞とNK細胞を欠損し、B細胞数は正常であることが診断に有用とされる。しかし、SCIDでは獲得免疫の異常をきたしているために同種細胞を排除する能力を欠くことから、母体由来リンパ球が患者末梢血中で増加する。そのため、免疫学的特徴から診断を予測することが困難となる場合がある。今回の2症例においてもCD3⁺T細胞が認められたが、CD132の発現とXY-FISHの結果から母由来であると判断した。このことは、CD132発現での母由来の細胞の評価において煩雑なXY-FISH法だけでなく、CD132をflow cytometryで確認することで免疫学的特徴を容易に捉えられることを示唆している。

症例1においてはT⁺, B⁺, NK⁻ のphenotypeを示したが、新規変異である症例2においてはT⁺, B⁺, NK⁺ phenotypeを示した。X-SCIDではNK細胞が欠損することが多く、T⁺, B⁺, NK⁺ phenotypeのSCID患者の多くはIL-7受容体の α 鎖欠損によるものと報告されている。T⁺, B⁺, NK⁺ phenotypeのX-SCID例の報告とともに母親由来のNK細胞の混入が確認された例の報告があることから、NK細胞の由来の証明が重要である。

症例2で生後初めての感染症の際にX-SCIDと診断されCBTが施行されたがCMV脳炎による後遺症を残した。このことは感染をきたしてから診断の大きな課題である。新生児スクリーニングにより、生後早期の感染症に罹患する前に診断し、治療へつなげることが本症患者の予後の改善につながると考えられた。